Münster 1936 No 52 Med DiSS

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.
Direktor: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund.

Über den Einfluß von Phlorrhizin auf diastatische Fermente.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde einer Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.

vorgelegt von

Johannes Dickebohm, Zahnarzt

aus Neuenhede / Ems

1934

Druckausführung Buchdruckerei Franz Grube, Werne a. d. Lippe

Dekan: Professor Dr. K. W. Jötten

Referent: Privatdozent Dr. med. et phil. W. Haarmann.

Korreferent; Professor Dr. med. et phil. H. Freund.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Ueber den Einfluß von Phlorrhizin auf diastatische Fermente.

In jüngster Zeit ist die Phlorrhizinwirkung häufig benutzt worden, um Einblicke in den Mechanismus der Zuckerresorption und der Fettresorption aus dem Darm zu gewinnen. Verzar[1]) hat die Vermutung ausgesprochen, daß die Hexosen während ihrer Passage durch die Darmschleimhaut in irgend eine andere Form umgewandelt werden. Die Schüler von Verzar: Wilbrandt und Laßt[2]) stellten die Hypothese auf, daß die Hexosen während der Resorption in der Darmwand mit Phosphorsäure verestert werden. Durch die Phosphorylierung soll das Diffusionsgefälle der freien Hexosen ansteigen, wodurch deren Resorption beschleunigt verläuft. Ihre Versuche dürften für die Richtigkeit dieser Annahme sprechen. Jodessigsäure hemmt die Phosphorylierung der Glukose in der Darmschleimhaut. Die Resorptionshemmung der Jodessigsäure wird auf die Unterbindung der Phosphorylierung der Glukose zurückgeführt. Die Pentosen z. B. Xylose, die mit Phosphorsäure nicht verestert werden, werden auch in Gegenwart der Jodessigsäure mit der gleichen Geschwindigkeit resorbiert. Nach Lundsgaard[3]) übt auch das Phlorrhizin eine spezifische Hemmung der Glukoseresorption aus ähnlich wie die Monojodessigsäure. Lundsgaard[4]) konnte den Nachweis erbringen, daß das Phlorrhizin die Phosphorylierungsvorgänge stark verzögert. Das gleiche gilt nach Verzar und Laßt[5]) auch für die Resorption von Neutralfett durch das Darmschleimhautepithel, sowohl für das Phlorrhizin wie auch für die Monojodessigsäure. Die Forscher schließen aus diesen Versuchen, daß auch bei der Resynthese der Fette im Darmschleimhautepithel Phosphorylierungsvorgänge eine Rolle spielen. Süllmann und Wilbrandt[6])

[1]) Verzar: Ergebn. d. Physiol. 32, 391, 1931.
[2]) Wilbrandt u. Laßt: Biochem. Z., 259, 398, 1933.
[3]) Lundsgaard: Biochem. Z. 264, 221, 1933.
[4]) Lundsgaard: ebenda, 264, 209, 1933.
[5]) Verzar u. Laßt: ebenda 270, 35, 1934.
[6]) Süllmann u. Wilbrandt: ebenda 270, 52, 1934.

fanden, daß der Phosphatidgehalt der Darmlymphe des Kaninchens während der Fettresorption zunimmt, was auf eine Phosphatidbildung in der Darmwand zurückgeführt wird. Nach einer neueren Arbeit von Verzar und Laßt[7]) hemmt das Phlorrhizin die Resorption der Fette sowohl bei Eingabe von Oel per os wie auch bei direkter Oelinjektion in den Darm. Für die selektive Resorptionshemmung durch Monojodessigsäure und Phlorrhizin erbrachte Laßt[8]) weitere Belege. Glyzerinextrakte aus Darmschleimhaut bewirken in Phosphatpufferlösung eine Abnahme von anorganischem Phosphat, wenn gleichzeitig Hexosen (Galaktose, Glukose und Fruktose) zugefügt werden. Pentosen (Mannose und Xylose) zeigen keine Abnahme des anorganischen Phosphats.

Nach Untersuchungen von Poulson[9]) beruht die bekannte Wirkung des Phlorrhizin auf die Glukoseausscheidung durch die Niere wahrscheinlich auf einer Hemmung bzw. Aufhebung der Rückresorption der Glukose durch die Tubuli der Niere. Lundsgaard[10]) macht die spezifische hemmende Wirkung des Phlorrizins auf die Phosphorylierung der Glukose hierfür verantwortlich. Nach seiner Annahme ist der Phlorrhizindiabetes eine rein renale Störung. Nach Vergiftung mit Phlorrhizin treten aber nur in der Niere erhebliche Phlorrhizinkonzentrationen auf, die auch in vitro die Esterifizierungsvorgänge hemmen. Besonders hervorgehoben sei, daß die Konzentration des Phlorrhizins in der Leber nur gering ist, sodaß die Phosphorylierungsvorgänge in diesen Verdünnungen nicht mehr verändert werden. Als Bestätigung seiner Auffassung führt Lundsgaard weiterhin an, daß wie Allan, Dickson und Markowitz[11]) beobachteten, Phlorrhizin neben der Glukosurie auch eine Steigerung der Phosphatausscheidung bewirkt. Die Frage, ob die Phlorrhizinwirkung eine rein renale Störung ist oder ob dabei noch andere Stoffwechselstörungen beteiligt sind, ist noch nicht geklärt.

Es war die Aufgabe der vorliegenden Arbeit zu prüfen, ob evtl. die Phlorrhizinwirkung sich auch an anderen Stoffwechselleistungen nachweisen läßt. Untersucht wurden der Einfluß des Phlorrhizins auf die Wirksamkeit einiger diastatischer Fermente. Geprüft wurde die Maltosebildung aus Stärke in der

---

[7]) Verzar u. Laßt: ebenda 276, 1, 1935.
[8]) Laßt: ebenda 276, 44, 1935.
[9]) Poulson: Jour. of Physiol. 69, 411, 1930.
[10]) Lundsgaard: Biochem. Zeitschr. 264, 209, 1933.
[11]) Allan, Dickson, Markowitz: Amer. Journ. of. Physiol. 70, 333, 1924.

bei Haack[12]) eingehend beschriebenen Versuchsanordnung. Die untersuchten Fermente waren

1. Speicheldiastase,
2. Malzdiastase,
3. Pankreadiastase und
4. Leberdiastase.

Versuchsserie I.

In der ersten Versuchsserie wurde die Einwirkung von Phlorrhizin auf die Leberamylase untersucht. Die Versuche wurden in Acetatpufferlösung (ph = 5,65), in Phosphatpufferlösung ph = 7,36) und in Citratpufferlösung (ph = 8,15) angestellt, um darüber Auskunft zu erhalten, ob die Phlorrhizinwirkung vom Säuregrad abhängig ist. Der ph der Phosphatpufferlösung entspricht dem des Blutserums. Die Versuche hatten folgende Zusammensetzung:

5 g fein zerteilte Leber,
10 ccm 5%ige Stärkelösung,
5 ccm Pufferlösung (m/10),
5 ccm Phlorrhizin in verschiedenen Konzentrationen bzw. in den Kontrollversuchen 5 ccm H_2O.

Das Gesamtvolumen der Ansätze betrug 25 ccm. Die Versuche blieben 4 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wurden dann durch Zusatz von 75 ccm 7,5%iger Trichloressigsäure unterbrochen. Nach mehrmaligem Umschütteln wurde vom ausgefällten Eiweiß abfiltriert und in 50 ccm Filtrat die Hexose jodometrisch bestimmt. Der direkte Versuch wurde zu Versuchsbeginn unterbrochen. Die Hexosebestimmung wurde in folgender Weise vorgenommen: 50 ccm Trichloressigsäurefiltrat (entsprechend 2,5 g Leber) wurden mit 20 ccm n/10 Jodlösung versetzt und darauf mit 2,5 ccm 33%iger Natronlauge. Durch die Lauge wird die freie Trichloressigsäure neutralisiert und Jod in Hyperjodid umgewandelt, wodurch die Lösung farblos wird. Nach Stehen über 20 Minuten wurde mit 5 ccm 20%iger Schwefelsäure angesäuert und das nichtverbrauchte Jod mit Thiosulfat zurücktitriert. 1 ccm n/10 Jod entspricht 9 mg Hexose. Die Hexosewerte sind in der Tabelle (1a) in mg %, auf die angewandte Lebermenge berechnet, angegeben: $\frac{9 \times 100}{2,5} = 360$

[12]) Haack: Inaugural-Dissertation, Münster, 1935.

Tabelle 1 a.
Leber, Phlorrhizin.

Konzentration	mg % Hexose					
	Citrat		Phosphat		Acetat	
	1	2	1	2	1	2
Direkter Versuch	1650	1390	1740	1070	1650	1440
Kontrollversuch	4590	4340	3610	3650	4270	4250
1.10^{-12} m	4650	4620	3660	3720	4440	4670
1.10^{-11} m	4780	4740	3760	3720	4590	4690
1.10^{-10} m	4810	4790	3950	3780	4620	4630
1.10^{-9} m	4840	4880	4060	3790	4610	4610
1.10^{-8} m	5070	4890	4010	3880	4720	4530
1.10^{-7} m	4780	4900	3950	4010	4500	4520
1.10^{-6} m	4740	4760	3950	3970	4610	4540
1.10^{-5} m	4790	4800	4090	4030	4700	4590
1.10^{-4} m	4780	4850	3700	3840	4540	4700
1.10^{-3} m	4340	4310	3630	3480	3840	4010
Versuchstier:	Schwein		Hund		Schwein	

Tabelle 1 b.
Leber, Phlorrhizin.

Konzentration	Hexosenachbildung; mg %					
	Citrat		Phosphat		Acetat	
	1	2	1	2	1	2
Direkter Versuch						
Kontrollversuch	2940	2950	1870	2580	2620	2810
1.10^{-12} m	3000	3230	1920	2650	2790	3230
1.10^{-11} m	3130	3350	2020	2650	2940	3250
1.10^{-10} m	3160	3400	2210	2710	2970	3190
1.10^{-9} m	3190	3490	2320	2720	2960	3170
1.10^{-8} m	3420	3500	2270	2810	3070	3090
1.10^{-7} m	3130	3510	2210	2940	2850	3080
1.10^{-6} m	3090	3370	2210	2900	2965	3100
1.10^{-5} m	3140	3410	2350	2960	3050	3150
1.10^{-4} m	3130	3460	1960	2770	2890	3260
1.10^{-3} m	2690	2920	1890	2410	2190	2570
Versuchstier:	Schwein		Schwein		Hund	

Tabelle 1 c.

Leber, Phlorrhizin.

Konzentration	Hexosenachbildung: % vom Kontrollversuch					
	Citrat		Phosphat		Acetat	
	1	2	1	2	1	2
1.10^{-12} m	102	109	103	103	106	115
1.10^{-11} m	106	113	108	103	112	116
1.10^{-10} m	107	115	118	105	113	114
1.10^{-9} m	108	118	124	106	113	113
1.10^{-8} m	116	119	121	109	117	110
1.10^{-7} m	106	119	118	114	109	110
1.10^{-6} m	105	114	118	112	113	110
1.10^{-5} m	107	115	126	115	116	112
1.10^{-4} m	106	117	105	107	110	116
1.10^{-3} m	92	99	101	94	84	91

Die verbrauchte Jodmenge in ccm mit 360 multipliziert ergibt die mg % Hexose. In Tabelle 1 b ist die Hexoseneubildung gegenüber dem direkten Versuch angegeben. In Tabelle 1 c die Hexoseneubildung in % des Kontrollversuches.

Da Phlorrhizin selbst Jod verbraucht, was sich aber nur in den beiden höchsten Konzentrationen bemerkbar macht, wurden die in Leerversuchen mit Phlorrhizin gefundenen Jod-Werte von denen in den Phlorrhizinversuchen abgezogen. Wie aus den Tabellen hervorgeht, steigert das Phlorrhizin selbst in sehr starken Verdünnungen den Stärkeabbau in der Leber sowohl in saurem wie in alkalischem Milieu; nur die höchste von uns angewandte Phlorrhizinkonzentration wirkt hemmend auf die Stärkeverzuckerung ein. Die Phlorrhizinwirkung ist sowohl in saurer wie in alkalischer Lösung annähernd gleich stark. Die Steigerungen der Stärkeverzuckerung betragen bis über 25 %. Die Versuche zeigen, daß die Phlorrhizinwirkung nicht als eine rein renale Störung angesehen werden darf, sondern daß daneben eine allgemeine Stoffwechselwirkung besteht, die an der Leber sehr deutlich in Erscheinung tritt. Die Konzentrationen, die den Stärkeabbau in der Leber bereits stark verändern, bewirken noch keine Hemmung der Esterifizierungsvorgänge in überlebendem Gewebe wie Lundsgaard[13]) nachwies. Um eine Hemmung der Zuckerveresterung zu bewirken, werden nur

[13]) Lundsgaard: Biochem. Z. 264, 209, 1933.

in der Niere genügende Phlorrhizinkonzentrationen erreicht, die nach Injektion des Glykosides einen Phlorrhizindiabetes hervorrufen. würden. Die Phlorrhizinkonzentration der Leber ist nach Lundsgaard[13]) bei Vergiftung des intakten Tieres mit den üblichen Phlorrhizingaben nur gering. Wir finden in unseren Versuchen selbst durch geringe Mengen Phlorrhizin eine erhebliche Beschleunigung der Stärkeverzuckerung, die eine Hyperglykämie zur Folge haben müßte. Wird die Rückresorption der Glukose in den Tubuli der Niere durch Phlorrhizin gestört, so muß eine Glykosurie die Folge sein. Der Blutzuckergehalt sinkt und, da der Organismus mit allen Mitteln den normalen Blutzuckergehalt von 0,1 % aufrecht erhält, so wird nach der bisherigen Auffassung rein gegenregulatorisch die Leber zu verstärkter Zuckerabgabe ans Blut angeregt. Nach unseren Untersuchungen bewirkt das Phlorrhizin auch schon primär eine Steigerung der Zuckerausschüttung aus der Leber. Der Phlorrhizindiabetes darf also nicht als eine eine rein renale Störung aufgefaßt werden.

Versuchsserie II.

Die folgenden Versuche, in denen die Einwirkung von Phlorrhizin auf die Wirksamkeit einiger diastatischer Fermente untersucht wurde, (Tabelle 2—6) zeigen, daß Phlorrhizin in allen Konzentrationen mit Ausnahme der höchsten Konzentration unwirksam ist. Die Menge der aus der Stärke gebildeten Maltose ist die gleiche wie im Kontrollversuch.

Die Konzentration des Speichels betrug 1:100, des Pankreatins und der Malzdiastase 1:20 000. Die acetatgepufferten Versuche wurden 2 Stunden der Einwirkung des Fermentes überlassen, der citratgepufferten 4 Std.. Die Versuchsanordnung ist eingehend bei Haack[14]) beschrieben.

Die angegebenen Maltosewerte beziehen sich auf die gesamten Versuchsansätze, die folgende Zusammensetzung hatten:

10 ccm 2,5%ige Stärkelösung,
5 ccm Pufferlösung,
5 ccm Phlorrhizin bzw. im Kontrollversuch H_2O,
5 ccm Fermentlösung.

[14]) Haack: Inaugural-Dissertation, Münster 1935.

Tabelle 2.

Speichel, Acetatpuffer.

Konzentration	mg Maltose	% vom Kontrollversuch	mg Maltose	% vom Kontrollversuch
Kontrollversuch	78,6	100	82,1	100
Phloorhizin				
1.10^{-12} m	79,9	101	83,6	102
1.10^{-11}	78,6	100	82,1	100
1.10^{-10}	79,0	100	82,0	100
1.10^{-9}	77,8	99	82,7	101
1.10^{-8}	78,9	100	82,9	101
1.10^{-7}	85,0	108	82,4	100
1.10^{-6}	83,6	106	84,0	102
1.10^{-5}	82,8	105	82,4	100
1.10^{-4}	81,4	104	80,4	98
1.10^{-3}	69,8	98	67,0	82

Tabelle 3.

Speichel, Citratpuffer.

Konzentration	mg Maltose	% vom Kontrollversuch	mg Maltose	% vom Kontrollversuch
Kontrollversuch	102,1	100	102,2	100
Phloorhizin				
1.10^{-12} m	102,3	100	99,4	94
1.10^{-11}	105,4	103	98,6	96
1.10^{-10}	103,5	101	98,4	96
1.10^{-9}	103,8	102	—	—
1.10^{-8}	105,5	103	97,6	95
1.10^{-7}	103,5	101	98,5	96
1.10^{-6}	102,9	100	98,4	96
1.10^{-5}	102,1	100	97,6	95
1.10^{-4}	98,6	96	94,4	92
1.10^{-3}	66,7	65	66,2	65

Tabelle 4.

Pankreatin, Acetatpuffer.

Konzentration	mg Maltose	% vom Kontrollversuch	mg Maltose	% vom Kontrollversuch
Kontrollversuch	63,1	100	65,1	100
1.10^{-12} m	64,2	102	66,6	102
1.10^{-11}	61,5	97	69,3	106
1.10^{-10}	64,8	103	68,2	105
1.10^{-9}	64,2	102	68,1	105
1.10^{-8}	64,3	102	67,5	104
1.10^{-7}	63,5	101	67,7	104
1.10^{-6}	64,6	102	67,2	103
1.10^{-5}	63,5	101	64,1	98
1.10^{-4}	66,8	104	58,3	89
1.10^{-3}	67,4	107	61,3	94

Tabelle 5.

Pankreatin, Citratpuffer.

Konzentration	mg Maltose	% vom Kontrollversuch	mg Maltose	% vom Kontrollversuch
Kontrollversuch	86,0	100	83,4	100
1.10^{-12} m	86,6	101	89,3	107
1.10^{-11}	90,9	106	90,9	109
1.10^{-10}	86,4	100	89,4	107
1.10^{-9}	89,3	104	89,8	108
1.10^{-8}	86,4	100	88,5	101
1.10^{-7}	88,4	103	88,4	106
1.10^{-6}	87,5	102	88,9	107
1.10^{-5}	88,9	103	89,1	106
1.10^{-4}	88,7	103	82,3	99
1.10^{-3}	78,0	91	63,8	76

Tabelle 6.

Malz-Diastase, Acetatpuffer.

Konzentration	mg Maltose	% vom Kontrollversuch	mg Maltose	% vom Kootrollversuch
Kontrollversuch	74,7	100	81,4	100
1.10^{-12} m	72,7	97	83,0	102
1.10^{-11}	76,0	102	80,9	99
1.10^{-10}	76,1	102	81,0	100
1.10^{-9}	76,9	103	84,0	103
1.10^{-8}	75,0	101	81,2	100
1.10^{-7}	75,4	101	82,3	101
1.10^{-6}	75,6	101	82,0	101
1.10^{-5}	75,4	100	85,6	111
1.10^{-4}	74,6	100	85,5	110
1.10^{-3}	65,6	88	68,4	84

Zusammenfassung.

Phlorrhizin regt selbst in starken Verdünnungen die Zuckerbildung in der Leber an. Die Wirksamkeit der Speichel-, Pankreas- und Malzdiastase wird durch Phlorrhizin nicht beeinflußt.

Lebenslauf.

Ich wurde am 27. April 1903 in Neurhede als Sohn des Kaufmanns Johannes Bernard Dickebohm und seiner Ehefrau Elisabeth geb. Struve geboren. Ich besuchte zunächst die Volksschule in Neurhede. 1920 kam ich auf das Realgymnasium in Papenburg und legte dort Ostern 1928 die Reifeprüfung ab. Wintersemester 1929/30 begann ich das Studium der Zahnheilkunde. Von Sommersemester 1931 bis Sommersemester 1932 mußte ich mein Studium unterbrechen. Nach dem Wintersemester 1932/33 bestand ich in Münster die zahnärztliche Vorprüfung und nach weiteren drei Semestern dortselbst die zahnärztliche Staatsprüfung.